

University of Groningen

## Dunnelaagchromatografie met dampprogrammering

de Zeeuw, Rokus Arie

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

1968

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

de Zeeuw, R. A. (1968). *Dunnelaagchromatografie met dampprogrammering: Ontwikkeling van een nieuwe techniek en enkele toepassingen daarvan*. s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

## 9. SAMENVATTING

Het optreden van enkele onverwachte effecten bij dunnelaagchromatografische scheidingen deed vermoeden dat loopvloeistofdamp een rol speelt bij het tot stand komen van het scheidingsresultaat. Deze veronderstelling heeft geleid tot het in dit proefschrift beschreven onderzoek.

Aan de hand van experimenten, waarbij platen worden ontwikkeld in aanwezigheid van damp van componenten, welke niet in de loopvloeistof voorkomen, is aangetoond, dat de scheidingen beïnvloed worden door de aard en de hoeveelheid damp die door het droge adsorbens wordt geadsorbeerd. Veranderingen in de aard en de hoeveelheid geadsorbeerde damp hebben — bij gelijkblijvende loopvloeistof — sterke veranderingen in de scheiding tot gevolg. Bij de dampadsorptie zal steeds een zo polair mogelijk adsorbaat gevormd worden, waarbij de mate van adsorptie voor elke component verschillend is en afhangt van de eigen polariteit en van de polariteit van eventuele andere aanwezige componenten. Het adsorbaat zal een voorloper zijn van de stationaire fase, die ontstaat wanneer de loopvloeistof het met damp geïmpregneerde adsorbens gaat bedekken. De scheiding van stoffen zal plaatsvinden door interacties met de stationaire fase, zodat het karakter hiervan van groot belang is. Dit karakter wordt voornamelijk bepaald door dampadsorptie aan het nog droge adsorbens. Hieruit kan geconcludeerd worden, dat de rol van de meer polaire componenten in samengestelde loopvloeistoffen voor een groot deel bestaat uit het ontwikkelen van damp. Deze damp wordt geadsorbeerd door het adsorbens en in mindere mate ook door de opstijgende loopvloeistof geabsorbeerd, komt terecht in de stationaire fase, waarna de te scheiden stoffen de invloed ervan ondervinden. Het wordt duidelijk, dat er hierdoor een wezenlijk verschil verklaart, waarom in vele gevallen DLC superieur is aan kolomchromatografie. Bovendien komt naar voren dat het onjuist is DLC als adsorptiechromatografie te beschouwen. Het zal vaak een combinatie van adsorptie— en verdeelingschromatografie zijn, waarbij met meer polaire loopvloeistoffen de verdeling de overhand zal krijgen.

Water is een component welke meestal niet in de loopvloeistof aanwezig is. Door het sterk polaire karakter van water hebben kleine hoeveelheden al grote invloed op de scheidingen. Daar echter waterdamp altijd in de omringende lucht aanwezig is, is het noodzakelijk dat we met gestandaardiseerde vochtigheidscondities werken, zodat de hoeveelheid waterdamp tijdens het schei-

dingsproces steeds constant is en hiervan dus steeds eenzelfde invloed op de scheiding uitgaat. Zonder gestandaardiseerde vochtigheidscondities kunnen geen reproduceerbare scheidingen verwacht worden.

Bij gebruik van meercomponentige loopvloeistoffen in onverzadigde ontwikkelbakken zullen, doordat na het begin der ontwikkeling steeds meer damp in de bak ontstaat en de loopvloeistof direct gaat stijgen, de bovenste delen van de plaat meer damp kunnen opnemen dan de onderste. Hierdoor ontstaat een concentratiegradiënt van geadsorbeerde damp, voornamelijk bestaande uit de meer polaire component(en), wat tot gevolg heeft dat de bovenste vlekken sneller gaan lopen en dus het chromatogram uit elkaar getrokken wordt. Dit verklaart waarom in onverzadigde ontwikkelbakken betere scheidingen optreden, zodat met meercomponentige loopvloeistoffen deze bakken de voorkeur verdienen boven de klassieke verzadigde ontwikkelbak. Door de aanwezigheid van troggen met bepaalde vloeistofcomponenten tijdens de ontwikkeling kunnen bepaalde dampinvloeden nog versterkt of verzwakt worden.

Bij de Sandwich—ontwikkelbak is de bak zo smal dat de dampdiffusie sterke hinder ondervindt. Hierdoor zijn de dampcondities bij gebruik van meercomponentige loopvloeistoffen in de S—ontwikkelbak totaal anders dan in de normale N—ontwikkelbak, waardoor de scheidingen in de S—bak niet te vergelijken zijn met die van de N—bak, of zelfs in het geheel niet gerealiseerd kunnen worden. Vanwege de sterk beperkte dampdiffusie bestaat er daarentegen een grote overeenkomst tussen de scheidingsmechanismen van de S—ontwikkelbak en de kolomchromatografie.

Het gebruik van onverzadigde ontwikkelbakken, eventueel in combinatie met troggen, is een eerste vorm van DLC met dampbeïnvloeding waarmee reeds aanmerkelijk betere scheidingsresultaten behaald kunnen worden, maar het is duidelijk dat deze techniek nog te weinig mogelijkheden heeft wat het instellen van een gradiënt betreft. Daarom is een geheel nieuw apparaat ontworpen, de Damp—programmeringsbak\*, waarmee op een eenvoudige manier optimale dampcondities ingesteld kunnen worden. Met deze ontwikkelbak kan elke vlek in het chromatogram naar behoeven geremd of versneld worden, zodat gesproken kan worden van gestuurde chromatografie. Hiermee kunnen zeer sterk verbeterde scheidingen verkregen worden, wat gedemonstreerd wordt aan de hand van een reeks van loopvloeistoffen en enkele groepen zeer nauw verwante, moeilijk te scheiden stoffen.

Het laat zich aanzien, dat de hier beschreven invloed van damp op de scheidingen een nieuwe dimensie toevoegt aan de bestaande DLC, die een belang-

---

\* Nederlands octrooi en buitenlandse patenten aangevraagd.

rijke rol zal spelen bij de verdere ontwikkeling op dit gebied. Dunnelaagchromatografie met dampprogrammering is een eerste voorbeeld hiervan en deze techniek zal ongetwijfeld een waardevolle aanvulling kunnen zijn op de huidige vormen van dunnelaagchromatografie.

## 10. SUMMARY

Some unexpected results in thin layer chromatography (TLC) with multicomponent solvents gave us the idea that solvent vapour could play a role in the realization of the separation. This presumption has led to the investigations described in this thesis.

By developing TLC plates in the presence of vapour of liquids not present in the running solvent, it could be shown that separations are influenced by the nature and the amount of vapour, adsorbed by the dry adsorbent. Changes in the nature and in the amount of this adsorbed vapour — with identical solvents — cause great changes in the separations. The vapour adsorption processes tend to form an adsorbate as polar as possible with the rate of adsorption being different for each individual vapour component, depending on its own polarity and on the polarity of other available components. The vapour adsorbate, consisting of the more polar vapour components, is to be considered the precursor of the stationary phase which will arise when the running solvent covers these areas impregnated by vapour. It should be noted that when wetted by the solvent, the adsorbent will form an adsorbate consisting of the more polar components of the solvent and the solvent vapour. The term stationary phase is used for the adsorbent together with this adsorbate, whereas the remaining unadsorbed part of the solvent is called mobile phase. Separation of substances will occur by interactions with the stationary phase, the latter thus being very important. As could be shown, the character of the stationary phase is highly determined by vapour adsorption on the dry plate. Furthermore, it becomes clear that the influence of the more polar solvent components upon the separation is mainly due to its vapour. This vapour is adsorbed by the dry adsorbent and, to a lesser extent, absorbed by the ascending solvent, is incorporated in the stationary phase and then it will influence the migration of the substances. From this it is obvious, that there exists a basic difference between TLC and column chromatography, because vapour impregnations of the adsorbent in the latter technique cannot take place in the same characteristic way as in TLC. This also explains why TLC with multicomponent solvents is in most cases superior to column chromatography. Furthermore, it should be observed that TLC should not be considered to be based on adsorption principles only. Due to the presence of a stationary phase partition principles can play a role as well, thus giving a mixture of adsorption and partition chromatography. With more polar solvents the partition effects may even become predominant.

Water is a liquid component which does not often occur in solvent systems

because due to the strong polarity of water small amounts will have great influence on the migration of the spots. However, water vapour will always be present in the ambient room atmosphere, thus making it necessary to work under standardized humidity conditions. This can be done by working at constant relative humidities so that the amounts of water vapour during the chromatography procedures will always be the same. This will result in a fixed water vapour influence on the separations, which will be very valuable for the reproducibility of the  $R_f$ -values.

If multicomponent solvents are used in unsaturated chambers the upper parts of the plate will be able to adsorb more vapour than the lower parts, due to the ascending of the solvent which gradually covers the lower parts. Thus, a concentration gradient of adsorbed vapour is formed across the plate, increasing from bottom to top and containing the more polar vapour components. This will result in an acceleration of the migration rate of the faster running spots whereas at the same time the lower running spots, passing through areas with a smaller percentage of the polar components, are affected to a lesser extent. These processes explain why unsaturated chambers can give better separations than saturated chambers, so that with multicomponent solvents the unsaturated chamber should be preferred. The use of troughs, placed at the bottom of the development chamber and filled with one or more liquid components, can be a valuable tool to increase certain vapour concentrations, thus giving better vapour conditions.

The diameter of the Sandwich-chamber is so small that vapour diffusions are very limited in comparison with the normal chamber. This will result in totally different vapour adsorption possibilities, so that, consequently, the S-chamber and the N-chamber cannot be compared and data, obtained in one system cannot be used as references for the other. In fact, S-chambers are more related to column chromatography because on columns vapour diffusion and vapour impregnation are also limited.

The use of unsaturated chambers, if necessary in combination with troughs, is a first step in vapour controlled TLC, through which more efficient separations can be obtained. However, it will be obvious that the vapour conditions in using this technique will not necessarily be optimum for every case. Therefore we have developed a new apparatus, the Vapour-Programming Chamber\*, with which optimal vapour conditions can be established all over the plate and each individual spot can be guided by acceleration or deceleration. Thus, Vapour-Programmed TLC offers highly improved separations. This is

---

\* Patents pending. Soon obtainable from C. DESAGA, Heidelberg.

shown with some selections of closely related substances, which are inadequately separated by classical TLC, such as azodyes, barbiturates, sulfanilamides and local anaesthetics. A variety of solvents is used in combination with silica gel and aluminium oxide as adsorbents.

It becomes clear that the influence of solvent vapour as described in this thesis adds a new dimension to TLC, at the same time opening new possibilities for further developments. The Vapour—Programming Chamber is a first example of this and it will undoubtedly be a valuable supply to the existing techniques of thin layer chromatography.

An English translation of this thesis will appear in Volume 3 of the series 'Progress in Separations and Purifications', E.S. Perry, Editor, to be published by Interscience Publishers Inc., New York.